

Braunschweigische  
Wissenschaftliche Gesellschaft

# Jahrbuch 2018

Sonderdruck  
Seiten 104–112



J. CRAMER Verlag • Braunschweig  
2019

## Die neue Rolle für die Akademische Wirkstoffforschung\*

ANDREAS KIRSCHNING

Institut für Organische Chemie und Biomolekulares Wirkstoffzentrum (BMWZ)  
der Leibniz Universität Hannover, Schneiderberg 1 b, DE-30167 Hannover,  
E-Mail: andreas.kirschning@oci.uni-hannover.de

Die Wirkstoffforschung ist die Domäne der Pharmazeutischen Industrie, weil diese die naturwissenschaftlich-medizinischen und technischen Expertisen besitzt und kooperativ vereint, um maßgeschneiderte Medikamente für bedeutende Indikationen, wie Krebs, Herz-Kreislaufkrankungen, Diabetes oder Alzheimer zu entwickeln. Warum sollten sich also akademische Einrichtungen, inklusive Universitäten, in ein sehr interdisziplinär ausgelegtes Forschungsfeld begeben? Forschungsinstitutionen und Universitäten werden kaum in die Situation gelangen, ein Medikament zu entwickeln und dieses über die diversen klinischen Studien zur Marktreife zu führen?

Ist es nicht den Hochschulen und den Forschungszentren vorbehalten, sich um Grundlagen ihrer Kerndisziplinen zu kümmern und im Falle der Wirkstoffforschung sich u. a. mit biochemischen Grundlagen der Pathogenese, mit der Entwicklung neuer biologischer Zielstrukturen für Wirkstoffmoleküle oder mit grundlegenden Synthesestrategien zu wirkstoffrelevanten Kernstrukturen zu beschäftigen, die als Ausgangspunkt für indikationsgetriebene Wirkstoffforschung dienen könnten? Am Beispiel der Antibiotika sei kurz erläutert, dass diese klassische Aufgabenteilung nicht mehr in allen Fällen gilt.

Mit der Entwicklung der antibakteriell wirksamen Sulfonamide durch G. Domagk in den Jahren zwischen 1929 und 1935 sowie der Entdeckung von Alexander Fleming im Jahre 1928, dass Schimmelpilze der Gattung *Penicillium* in der Lage sind, antibakteriell aktive Substanzen zu produzieren und der erstmaligen Isolierung und Produktion der Wirkkomponente Penicillin, wurde das „goldene Zeitalter“ der Antibiotikaforschung eingeleitet. Berühmte weitere Vertreter wurden durch Naturstoffforschende gefunden und den Gesundheitssystemen zugänglich gemacht. Hierzu zählen neben den besagten  $\beta$ -Lactam-Antibiotika das Erythromycin, die Tetracycline, die Aminoglycosid-Antibiotika und die Glycopeptide. Diese wurden durch synthetische

---

\* Der Vortrag wurde am 09.11.2018 vor der Plenarversammlung der Braunschweigischen Wissenschaftlichen Gesellschaft gehalten.

Klassen, wie die Chinolone und Oxazolidinone komplementiert. Die Erforschung und Entwicklung dieser Wirkstoffe lag dabei über Jahrzehnte fast ausschließlich in den Händen großer Pharmaunternehmen. Im Sommer 2018 verkündete nun die Novartis AG als letztes großes europäisches Unternehmen den Ausstieg aus dieser Forschung. Auf den anderen Kontinenten sieht es nicht besser aus, so dass sich für die Versorgung mit modernen, multiresistenzangepassten Antibiotika eine dramatische Situation abzeichnet. Der Marktpreis, der für die in der Regel patentfreien Antibiotika erzielt wird, steht den immensen Kosten für die Entwicklung von neuen Antibiotika mit völlig neuen, resistenzbrechenden Wirkmechanismen entgegen, so dass wirtschaftliche Erwägungen dazu führen, keine explorative und de facto unlukrative Forschung in diesem Indikationsfeld zu verfolgen.

Die grundlagengetriebene und auf eine klinische Anwendung gerichtete Antibiotikaforschung ist deshalb zunehmend in akademischen Netzwerken verortet. Idealerweise können hier auch risikoreiche Konzepte verfolgt werden, die die Wahrscheinlichkeit erhöhen, zu prinzipiell neuen Therapiekonzepten zu gelangen. Diese würden dann zu einem späteren Zeitpunkt von Biotech-Unternehmen oder der Pharmaindustrie aufgegriffen und idealerweise gemeinsam zur Marktreife weiterentwickelt werden.

Neu geschaffene Translationszentren wie das an der Leibniz Universität Hannover angesiedelte Biomolekulare Wirkstoffzentrum (BMWZ) sind ideale Ausgangspunkte für international aber auch regional verortete, langfristig ausgerichtete Forschungsnetzwerke, so wie in den vorliegenden beiden Beispielen exemplarisch gezeigt zwischen der Leibniz Universität Hannover, der Medizinischen Hochschule Hannover und dem Helmholtzzentrum für Infektionsforschung in Braunschweig.

Der vorliegende Bericht dokumentiert an zwei Fallbeispielen den Facettenreichtum akademischer Wirkstoffforschung. In den vorgestellten Themen wird dieses durch die Kombination der chemisch ausgerichteten Wirkstoffforschung mit der Nanomedizin und Zellbiologie wie auch der Regenerativen Medizin offenbar.

Das erste Fallbeispiel nutzt die besonderen Eigenschaften von superparamagnetischen Nanopartikeln auf Basis von Eisenoxiden für vielversprechende therapeutische und diagnostische Konzepte. Gemeinsame grundlegende Arbeiten am Laboratorium für Nano- und Quantenengineering (LNQE) und im Zentrum für Biomolekulare Wirkstoffe (BMWZ) lieferten Transportsysteme für Wirkstoffe, die für die Krebstherapie Anwendung finden können. Der Exzellenz-Cluster REBIRTH und die Kooperation mit dem Helmholtzzentrum für Infektionsforschung in Braunschweig ermöglichten die Ausweitung der Untersuchungen auf medizinische Bereiche an der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH).

Das zweite Thema stellt die durch ausgeprägte Interdisziplinarität erreichte Überwindung eines technischen Problems im Bereich der Lungentransplantation dar. Auch hier war eine medizinische Fragestellung Ausgangspunkt für ein Projekt,

welches dann durch Wirkstoffchemiker und Materialwissenschaftler an der Leibniz Universität Hannover und Mediziner an der MHH erfolgreich bearbeitet wurde.

### Beispiel 1: Nanopartikel in der Krebstherapie – ein molekulares „Trojanisches Pferd“

Nanomaterialien sind aufgrund ihrer exzellenten elektrischen, optischen, magnetischen und katalytischen Eigenschaften für die heutige Forschung von großer Bedeutung [1]. Ihre sehr kleine Größe ( $1\text{ nm} = 10^{-9}\text{ m}$ ) verleiht ihnen im Vergleich zu bekannten Materialien eine verhältnismäßig große Oberfläche. Nanomaterialien auf Basis von Eisenoxiden ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) finden Anwendungen aufgrund ihrer einzigartigen elektrischen und magnetischen Eigenschaften im Bereich der Lithium-Ionen-Batterien, Abwasserbehandlung und der Medizin (siehe Abbildungen 1A. und 1B.). Da sie in etwa der Größe von biologischen Molekülen entsprechen, können sie im menschlichen Körper gezielt an bestimmte Anwendungsgebiete transportiert werden und je nach Aufbau dabei biologische Barrieren wie Zellwände, die Magen-Darm-Wand oder die Blut-Hirn-Schranke überwinden [2]. Aus diesem Grund haben Nanomaterialien neben rein technischen Anwendungen auch den Bereich der Biomedizintechnik und der Medizin erreicht.

In den letzten Jahren kristallisierten sich mehrere vielversprechende Einsatzgebiete für solche Materialien heraus. Zum einen werden Nano-Transportsysteme, sogenannte „Nano Delivery Systems“ entwickelt, die für die Verteilung von Wirkstoffen im Körper einsetzbar sind. Zum anderen fokussiert sich die Forschung auf die superparamagnetischen Eisenoxid-Nanopartikel, die in der Krebstherapie Anwendung finden können [2].

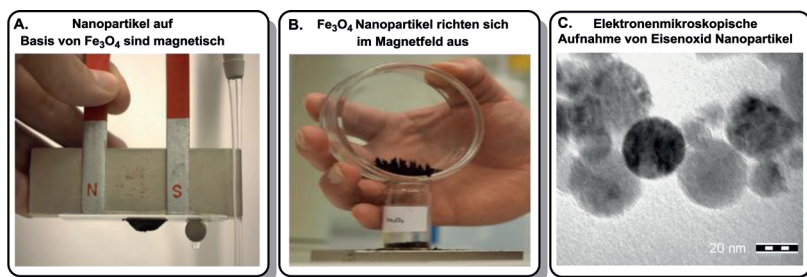


Abb. 1: A. Nanopartikel auf Basis von Eisenoxiden (hier:  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) werden aufgrund ihrer magnetischen Eigenschaften von einem Magneten angezogen; B. Befinden sich die Partikel in einem Magnetfeld, so richten sich diese entsprechend aus; C. Aufnahme von Nanopartikel durch Transmissions-Elektronen-Mikroskopie (TEM).

Krebs ist eine der weitverbreitetsten und häufigsten Krankheiten weltweit. Die Entwicklung neuer Methoden und neuer Materialien bzw. Medikamente für die Krebsbekämpfung nimmt einen großen Anteil in der medizinischen und naturwissenschaftlichen Forschung ein. Es besteht ein großes Selektivitätsdefizit bei den meisten, aktuellen Therapien, so in der Chemotherapie oder der Radiotherapie. Denn neben Krebszellen werden auch gesunde Zellen mit zum Teil dramatischen Nebenwirkungen angegriffen. Dieses ist auch ein Grund, warum die Heilungschancen für bestimmte Krebsklassen immer noch als gering oder mäßig anzusehen sind.

Nanoskalige Eisenoxide ( $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) (Abbildung 1C.) besitzen einige einzigartige Fähigkeiten. Neben ihren magnetischen Eigenschaften zeigen sie Superparamagnetismus. Dieser erlaubt das schnelle Erhitzen der Nanopartikel in einem externen elektromagnetischen Wechselfeld. Dieses indirekte Heizen wird auch als induktives Heizen bezeichnet; man findet es z. B. beim Induktionsherd in der häuslichen Küche. Diese nanoskaligen Materialien finden seit einiger Zeit unter dem Begriff Hyperthermie Anwendung in der Krebstherapie [3]. Hierbei handelt es sich um ein Verfahren, bei dem über induktive Erwärmung der nanostrukturierten Partikel das Tumorgewebe unter thermischen Stress gesetzt wird. Dieses sensibilisiert die Tumorzellen für die Chemotherapie oder aber leitet den programmierten Zelltod ein.

Für die Verbesserung der bisherigen Ansätze in der Krebstherapie wird derzeit die Entwicklung sogenannter „Wirkstoff-Konjugate“ stark vorangetrieben. Solche Konjugate bestehen aus drei Komponenten: 1. einer Tumor-adressierenden Gruppe, 2. einem spaltbaren Verbindungselement und 3. dem antitumoralen Wirkstoff, dem Toxin (Abbildung 2A.). Diese Konstrukte sind in der Lage, das Toxin zielgerichtet und selektiv zu den Tumorzellen zu führen. Hierbei stellt die tumoradressierende Gruppe quasi eine Leitsonde dar. Während der freie Wirkstoff eine sehr hohe zytotoxische Aktivität aufweisen muss, dürfen diese kompletten Konjugate diese Eigenschaft nicht besitzen, damit sie ohne Schädigung des Körpers bis zum Tumorgewebe gelangen können. Im Februar 2013 wurde das erste industriell entwickelte Konjugat (Trastuzumab emtansine) für die klinische Nutzung gegen Brustkrebs zugelassen. Es enthält einen tumorspezifischen Antikörper als Leitsonde, welches an bestimmte tumortypische Rezeptoren andocken kann und dann zusammen mit dem gebundenen Toxin gemäß eines trojanischen Pferdes in die Tumorzelle internalisiert wird, wo nach Spaltung das freie Toxin seine tödliche Wirkung entfaltet.

Der Einsatz von superparamagnetischen Nanopartikeln (Abbildung 1C.) ermöglicht nun die Entwicklung weiterer Chemotherapeutika, die derzeit an den Forschungszentren LNQE und BMWZ der Leibniz Universität bearbeitet werden [4].

Für die medizinische Behandlung verfolgt das Konzept die Beladung dieser heizbaren Nanopartikel mit hochaktiven Toxinen wie den aus Bakterien gewonnenen Ansamitocinen (Abbildung 2D.) [5]. Im Sinne der oben beschriebenen Konjugate werden Nanopartikel und Toxin über ein spaltbares Verbindungselement verbunden.

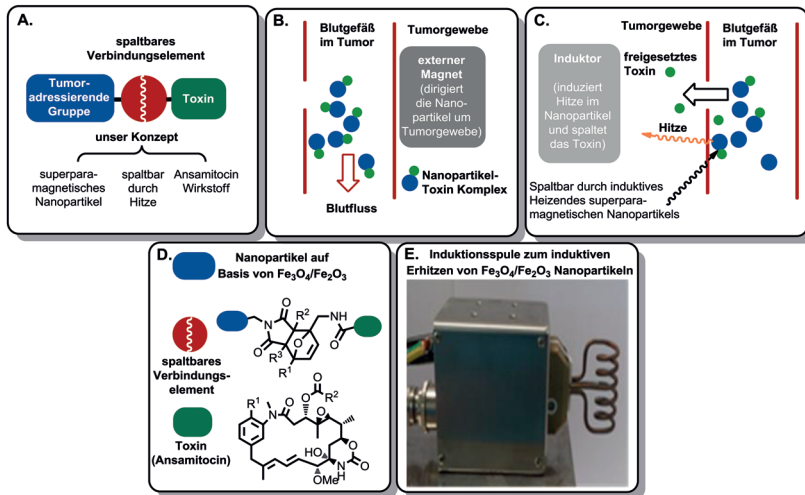


Abb. 2: A. Konjugat-Konzept in der chemotherapeutischen Behandlung von Krebs, bestehend aus einer Tumor-adressierenden Gruppe (z. B. Antikörper), einem spaltbaren Verbindungselement und einem Toxin; B. Dirigierung der superparamagnetischen Nanopartikel-Toxin Konjugate zum Tumorgewebe über einen externen Magneten; C. Erzeugung durch Wärme durch Induktion und vor Ort Freisetzung des Toxins durch Spaltung es Verbindungselements; D. Aufbau der Konjugate bestehend aus induktiv erwärmbaren Nanopartikel, thermisch spaltbaren Verbindungselement (Linker) und Toxin auf Basis von Ansamitocin; E. Induktionsspule für Laboranwendungen.

Der Spaltmechanismus wird durch induktiv erzeugte Hitze ausgelöst, also beim Anlegen des externen Induktionsfeldes (Abbildung 2C. und 2E.). Tumorzellen sind gemeinhin sensitiver gegenüber Stresssituationen als die thermoresistenteren, gesunden Zellen und werden bei Temperaturen von 42 °C geschädigt. Die selektive Schädigung wird dadurch erhöht, dass die gezielte Anreicherung der „Wirkstoff-Nanopartikel-Konjugate“ innerhalb des Tumorgewebes, z. B. durch Führung dieser durch die Blutbahn mittels eines externen Magneten möglich ist (Abbildung 2B.). Erste in vivo-Studien, durchgeführt am Zentrum für Experimentelle und Klinische Infektionsforschung GmbH (Twincore, MH Hannover), offenbarten die Biokompatibilität der intakten Konjugate und die erfolgreiche Freisetzung des Toxins unter hyperthermischen Bedingungen, wodurch die Reduktion des Tumolvolumens in einem Xenograft Mausmodell nachgewiesen wurde (Abbildung 3) [6].

Die in den Konjugaten eingesetzten Eisenoxid-Nanopartikel sollten nach erfolgter Therapie im Körper vollständig abgebaut oder ausgeschieden werden können. Es handelt sich hierbei also um die konzeptionelle Kombination zweier Therapieverfahren, der Chemotherapie und der Hyperthermie.

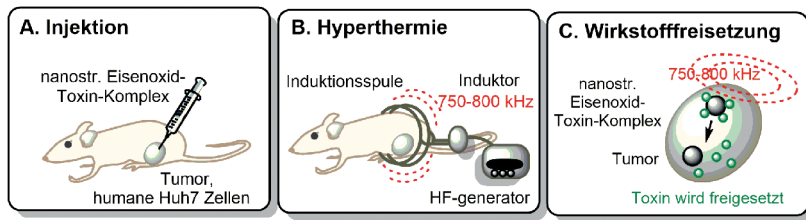


Abb. 3: A. Xenograft Mausmodell wird mit dem Nanopartikel-Toxin-Konjugat durch direkte Injektion in den Tumor behandelt; B. Hyperthermisches Aufwärmen dieser nanostrukturierten Eisenoxid-Partikel in einem elektromagnetischen Wechselfeld; C. Bestimmung des Tumorstadiums bzw. Vermessung des Tumorstadiums.

Perspektivisch wurde die Zusammenarbeit zwischen den beiden universitären Einrichtungen in Hannover um eine weitere mit dem Helmholtzzentrum für Infektionsforschung in Braunschweig ausgedehnt. Gemeinsam wurde ein Konzept für den gezielten Transport dieser Eisenoxid-Toxin-Nanopartikel im Körper zum Tumorgewebe entwickelt, die mit der skizzierten Freisetzung durch Hyperthermie kombiniert wurde. Als Transportsystem wurden Tumor-adressierende Makrophagen identifiziert, welche die beschriebenen nanostrukturierten Toxin-Konjugate aufnehmen und im Sinne eines trojanischen Pferdes zum Zielort führen. Diese Studien befinden sich derzeit noch in einer explorativen Phase [7], dokumentieren aber die ausgeprägte Risikofähigkeit und Interdisziplinarität moderner akademischer Wirkstoffforschung.

## Fallbeispiel 2: Atmen durch Plastik

Die mechanische Beatmung (Intubation) ist eine Standardtherapie bei akutem Lungenversagen. Jedoch kann durch die hierbei auftretenden physischen Belastungen die Lunge auch weiter geschädigt werden [8]. Einen Ausweg bieten hier Oxygenatoren, bei denen die lebensnotwendige Anreicherung des Blutes mit Sauerstoff und die Entfernung von Kohlendioxid außerhalb des Körpers durchgeführt wird. Diese Oxygenatoren bestehen aus Sauerstoff-durchströmten Hohlfasermembranen aus gasdurchlässigem Kunststoff, welche in Kassetten verbaut werden. Das Blut des Patienten wird dann durch diese Kassetten geleitet, wobei der Gasaustausch - ähnlich wie bei der Herz-Lungenmaschine bei Operationen am Herzen - durch die Hohlfasern stattfindet.

Ein Problem dieser Oxygenatoren (Abbildung 4A) ist jedoch, dass es an der Kunststoffoberfläche zu Ablagerungen von Blutbestandteilen kommt, wodurch die Anwendungsdauer dieser Geräte auf oftmals nur wenige Tage beschränkt bleibt



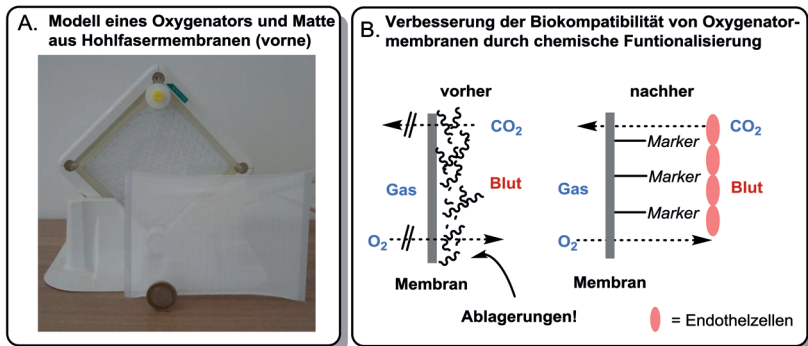


Abb. 4: A. Oxygenator (Hersteller: Novalung GmbH); B: Konzept der Oberflächen-modifizierung.

[8]. Nach dieser Zeit muss der Oxygenator ausgetauscht werden wodurch es zu erneuten Beeinträchtigungen für den Patienten kommen kann.

Nachdem an der MH Hannover gezeigt werden konnte, dass die Besiedlung der Hohlfasern mit Lungen-Endothelzellen die Hämokompatibilität der Fasern deutlich erhöht, sollte nun die Oberfläche der Fasern so verändert werden, dass eine stabile Ansiedlung dieser Zellen ermöglicht wird [9]. Hierzu sollte eine in natürlichem Kollagen vorkommende Aminosäuresequenz, das sogenannte RGD-Peptid, verwendet werden. Studien haben gezeigt, dass dieses Peptid von den Zellen erkannt wird und die Anheftung von Zellen an hiermit beschichteten Oberflächen und Materialien begünstigt (Abbildung 4B).

Abbildung 5A bezeugt den Aufbau der Peptid-Beschichtung. Der Prozess der Beschichtung startet mit einem chemischen Abstandhalter, der das RGD-Signal-Peptid

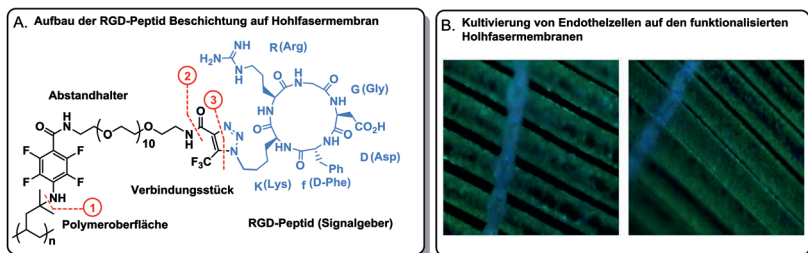


Abbildung 5: A: Aufbau der RGD-Peptid Beschichtung (Strichelung: Orte und Reihenfolge der chemischen Verknüpfungsreaktionen); B: Hohlfaser besiedelt mit Endothelzellen; links: nach 24 Stunden, rechts: nach 72 Stunden Kultivierung.



in einer ausreichend großen Entfernung von der Kunststoffoberfläche positioniert. Durch diesen Abstandhalter können die Zellen das freier zugängliche RGD-Peptid besser erkennen. Dieses Element musste jedoch zuerst auf der Oberfläche verankert werden. Um dieses Ziel zu erreichen ist es wichtig, Reaktionsbedingungen zu finden, mit denen man die chemisch sehr wenig reaktive Oberfläche der Hohlfasern bearbeiten kann. Hier war eine Plasma-Behandlung essentiell, die die vormals wasserabweisende Oberfläche nun für Wasser und Alkohole gut benetzbar machte. Die Plasma-behandelten Hohlfasern können nun mit einer alkoholischen Lösung des Abstandshalters behandelt werden. Die feste Abbindung an die Oberfläche erfolgte dann unter UV-Licht über einen sogenannten Nitren-Einbau.

Da das Signal-Peptid eine Vielzahl reaktiver chemischer Gruppen wie Carbonsäuren und Aminogruppen enthält, konnte es nicht direkt an den Abstandhalter gekoppelt werden. Unter hierbei typischen Bedingungen würde das Peptid ansonsten verändert und deaktiviert werden. Daher wurde zuerst ein Verbindungsstück eingebaut, welches ohne den Zusatz weiterer Reagenzien oder Katalysatoren mit dem RGD-Peptid reagieren kann. Dieser Reaktionstyp, für den das Peptid mit einem Azid ausgerüstet werden musste, wird wegen seiner Eleganz auch als „click“-Reaktion bezeichnet. „Click“-Reaktionen bieten den großen Vorteil, dass sie aufgrund ihrer milden Bedingungen auch in biologischen Systemen eingesetzt werden können, um beispielsweise Signalmoleküle direkt auf Zelloberflächen anzubinden.

Die biologische Untersuchung der Hohlfaser wurde an der Medizinischen Hochschule Hannover in den Leibniz Forschungslaboratorien für Biotechnologie und künstliche Organe durchgeführt. Hier konnte gezeigt werden, dass auf den RGD-beschichteten Hohlfasern eine homogene Besiedlung mit Endothelzellen ohne Funktionsverlust bezüglich der Gasdurchlässigkeit zu beobachten war (Abbildung 5B). Damit wurde ein Konzept realisiert, welches die Lebensdauer von Oxygenatoren erheblich verlängert.

## Ausblick

Es gibt gute Gründe, Themen der Wirkstoffforschung in universitären Translationszentren wie dem Biomolekularen Wirkstoffzentrum (BMWZ) zu bündeln, um so die klassischen Grenzen der akademischen Fachdisziplinen aufzubrechen und naturwissenschaftlich-technisch-medizinische Fragestellungen zu bearbeiten, die sich als zu risikoreich für die pharmazeutische Industrie erweisen. In diesem Umfeld erlernt die nächste Generation von Chemikern, Ingenieuren, Biowissenschaftlern und Medizinern die teamorientierte Forschung, wie sie in den Entwicklungsabteilungen von Unternehmen zwingend üblich ist. Zusätzlich sind interdisziplinär ausgerichtete Forschungszentren wie das BMWZ für außeruniversitäre Forschungszentren, z.B. in der Helmholtzgemeinschaft, wesentlich interessantere Partner und öffnen die Universitäten für große Netzwerkprogramme. Der vorliegende Bericht liefert anhand von zwei Fallbeispielen einen Einblick in diese Entwicklung.

## Literatur

- [1] LIU, X., Z. ZHONG, Y. TANG & B. LIANG (2013): Review on the Synthesis and Applications of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  Nanomaterials. – J. Nanomaterials, article ID 902538, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/902538>.
- [2] Schriften der Friedrich-Ebert-Stiftung: GROBE, A., C. SCHNEIDER, M. REKIC & V. SCHETULA (2008): Nanomedizin – Chancen und Risiken, ISBN: 978 -3- 89892-965 -3 <http://library.fes.de/pdf-files/stabsabteilung/05709.pdf>
- [3] SOHAI, A., Z. AHMAD, O.A. BÉG, S. ARSHAD & L. SHERIN (2017): A review on hyperthermia via nanoparticle-mediated therapy. – Bull. Cancer **104**: 452–461.
- [4] NORRIS, M.D., K. SEIDEL & A. KIRSCHNING (2019): Externally induced drug release systems with magnetic nanoparticle carriers: an emerging field in nanomedicine – Adv. Therap. **2**: 1800092.
- [5] WANG, L.-L., A. BALAKRISHAN, D. CANDITO, Y. XIE, K. SEIDEL, N. BIGALL, M. OTT & A. KIRSCHNING (2017): A bio-chemosynthetic approach to superparamagnetic iron oxide - ansamitocin conjugates for use in magnetic drug targeting (MDT) – Chem. Eur. J. **23**: 2265–2270.
- [6] SEIDEL, K., A. BALAKRISHAN, C. ALEXIOU, C. JANKO, R.-M. KOMOLL, L.-L. WANG, A. KIRSCHNING & M. OTT (2017): Inductively heated magnetic nanoparticle-ansamitocin conjugates lead to decreased cell proliferation in vitro and attenuation of tumor growth in vivo. – Chem. Eur. J. **23**: 12326–12337.
- [7] ULLAH, S.; K. SEIDEL, S. TÜRKHAN, D.P. WARWAS, T. DUBICH, M. RHODE, H. HAUSER, P. BEHRENS, A. KIRSCHNING, M. KÖSTER & D. WIRTH (2019): Macrophage entrapped silica coated superparamagnetic iron oxide particles for controlled drug release in a 3D cancer model. – J. Contr. Release. **294**: 327–336.
- [8] RICARD, J.D., D. DREYFUSS & G. SAUMON (2003): Ventilator-induced lung injury – Eur. Respir. J. Suppl. **42**: 2s-9s.
- [9] MÖLLER, L., C. HESS, J. PALECEK, Y.U.A. HAVERICH, A. KIRSCHNING & G. DRÄGER (2013): Towards a biocompatible artificial lung: Covalent functionalization of poly-4-methylpent-1-ene (TPX) with cRGD pentapeptide Beilstein. – J. Org. Chem. **9**: 270–277.